

Veränderungen von Amino transferasen und Muskelproteinen bei der Behandlung von Schweinefleisch mit ionisierenden Strahlen

Prof. Dr. R. Hamm, Dr. K. Hofmann, Dr.-Ing. Th. Grünwald und Dr. W. Partmann. Aus dem Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, und der Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe.

Scheiben von magerem Schweinefleisch wurden mit Elektronenstrahlen (β -Strahlen) bei Dosen von 0,2, 1,0 und 5,0 Mrad behandelt. Die Wirkung niedriger Bestrahlungsdosen führte zu einer Zunahme der Aktivitäten von Aspartat-Aminotransferase (GOT) und Alanin-Aminotransferase (GPT) im Gesamtgewebe und Sarkoplasma (Muskelpreßsaft). Bestrahlung mit 5 Mrad hatte eine starke Aktivitätsabnahme von GOT und GPT in Gewebe und Sarkoplasma zur Folge. Es erscheint zweifelhaft, daß diese Inaktivierung auf einer Zerstörung von Sulfhydryl-Gruppen der Enzyme beruht. Bei Bestrahlung mit 5 Mrad kam es zu einer partiellen Freisetzung des mitochondrialen GOT-Isozyms (GOT_M) in das Sarkoplasma. Dies läßt auf eine Schädigung der Mitochondrienmembranen durch ionisierende Strahlen schließen. — Bestrahlen des Schweinefleisches brachte eine Zunahme des pH-Wertes des Gewebes und eine Abnahme des Wasserbindungsvermögens (Zunahme des gebildeten Tropfsaftes) mit sich. Bis zu einer Dosis von 1 Mrad wurde die Löslichkeit der Sarkoplasma-Proteine nicht eindeutig beeinflusst, während 5 Mrad eine starke Abnahme der Protein-Löslichkeit hervorriefen. Überraschenderweise veränderte eine Bestrahlungsdosis selbst von 5 Mrad die Zahl der insgesamt im Gewebe vorhandenen Sulfhydrylgruppen nicht. Wie die SDS-Elektrophorese ergab, trat bereits bei einer Bestrahlungsdosis von 0,2 Mrad eine drastische Abnahme der Myosin-Bande und eine Zunahme von Peptid-Spaltstücken mit niedrigerem Molekulargewicht ein, während Actin nur wenig verändert wurde. — Wie eine Diskussion der Resultate ergibt, besteht zwischen der Wirkung des Erhitzens und dem Einfluß der energiereichen Strahlen auf Fleisch ein grundsätzlicher Unterschied.

Changes in amino transferases and muscle proteins when treating pigmeat with ionising rays

Slices of lean pigmeat were treated with electron rays (β -rays) at doses of 0,2, 1,0 and 5,0 Mrad. Low irradiation doses led to an increase in the activity of aspartate amino transferase (GOT) and alanine amino transferase (GPT) in the tissue generally and in the sarcoplasm (juice expressed from the muscle). 5 Mrad caused a great reduction in the activity of GOT and GPT in the tissue and the sarcoplasm. It seems doubtful whether this inactivation is due to a destruction of enzyme sulphhydryl groups. Irradiating with 5 Mrad resulted in partial release of the mitochondrial GOT isozyme (GOT_M) into the sarcoplasm. This indicates damage to the mitochondrial membranes by ionising rays. — Irradiating the pigmeat increased the pH of the tissue and lowered its water binding ability (increase in drip). Up to a dose of 1 Mrad the solubility of the sarcoplasmic proteins was not definitely affected, but 5 Mrad caused a considerable drop in protein solubility. Surprisingly a dose of even 5 Mrad did not change the total number of sulphhydryl groups present in the tissue. Sephadex thin layer electrophoresis showed that at 0,2 Mrad there was a drastic decrease in the myosin band and an increase in peptide fragments of low molecular weight, whilst actin was little changed. A discussion of the results shows that there is a fundamental difference between the effects of heat and the influence of energy-rich rays on meat.

Modifications d'aminotransférases et de protéines de muscle pendant le traitement de viande de porc avec des rayons ionisants

On a traité des tranches de viande de porc maigre avec des rayons d'électrons (rayons β); les doses étaient de 0,2, 1,0 et 5,0 Mrad. L'effet de doses de rayonnement faibles menait à une augmentation des activités d'aspartate-aminotransférases (GOT) et d'alanine-aminotransférases (GPT) dans tout le tissu ainsi que dans le sarcoplasme (jus de viande obtenu par pression). Le rayonnement avec 5 Mrad entraînait une forte diminution d'activité de GOT et de GPT dans le tissu et le sarcoplasme. Il semble douteux que cette inactivation soit due à une destruction des groupes de sulfhydryle des enzymes. Le rayonnement avec 5 Mrad menait à une libération partielle de l'isozyme GOT mitochondrial (GOT_M) et à sa transition dans le sarcoplasme. Ce fait permet de conclure à un endommagement des membranes des mitochondries par des rayons ionisants. — Le rayonnement de viande de porc entraînait une augmentation de la valeur pH du tissu et une diminution du pouvoir de rétention d'eau (augmentation du jus d'égouttage). Jusqu'à une dose de 1 Mrad, la solubilité des protéines de sarcoplasme n'a pas été influencée de façon claire, tandis que 5 Mrad provoquaient une forte diminution de la solubilité des protéines. Il était surprenant que même une dose de 5 Mrad ne changeait pas le nombre du total des groupes de sulfhydryle présents dans le tissu. La SDS-électrophorèse montrait déjà à partir d'une dose de 0,2 Mrad une diminution frappante de la bande de myosine et une augmentation de morceaux de peptide fendus d'un poids moléculaire inférieur, tandis que l'actine ne fut modifiée que de peu. — La discussion des résultats démontre qu'il existe une différence fondamentale entre l'effet du chauffage d'une viande et l'influence des rayons riches en énergie sur la viande.

Einleitung

Für die Haltbarkeit von Fleisch, das durch Behandlung mit ionisierenden Strahlen konserviert wurde, ist die Frage von Interesse, in welchem Umfang die Enzyme des Gewebes durch Bestrahlen inaktiviert oder aktiviert werden. Dabei wird es sicherlich von Bedeutung sein, ob ionisierende Strahlen Zellmembranen schädigen und hierdurch eine Freisetzung von strukturgebundenen Enzymen hervorufen. Es ist nämlich zu erwarten, daß in das Sarkoplasma freigesetzte Enzyme leichter an ihre Substrate gelangen und daher rascher biochemische Veränderungen im Gewebe bedingen als die an subzelluläre Teilchen gebundenen Enzyme. Reich mit Enzymen ausgestattet sind die Mitochondrien, in welchen z. B. die Enzyme des Zitronensäurezyklus und der Atmungskettenphosphorylierung lokalisiert sind. Untersuchungen über den Einfluß des Gefrierens und Auftauens von Muskelgewebe auf die subzelluläre Verteilung von Mitochondrien-Enzymen haben gezeigt, daß durch Gefrierschädigung der Mitochondrien-Membranen bestimmte Enzyme freigesetzt werden (15) (18); so geht vor allem die mitochondriale Aspartat-Aminotransferase (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GOT; E.C. 2. 6. 1. 1) in das Sarkoplasma über (18). Je stärker die Gefrierschädigung der Mitochondrien ist, um so stärker steigt die Aktivität der mitochondrialen GOT (GOT_M) im Sarkoplasma an. Zur Bestimmung der GOT_M muß diese durch Elektrophorese von dem Sarkoplasma-Isozym der GOT (GOT_S) getrennt werden. Die GOT ist für solche Untersuchungen besonders geeignet, da sich ihre Gesamtkonzentration im Gewebe und die subzelluläre Verteilung ihrer Isozyme GOT_M und GOT_S im Verlaufe der normalen Fleischreifung nicht ändern (19).

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, auf Grund der subzellulären Verteilung der GOT-Isozyme im Gewebe festzustellen, ob Behandeln

von Schweinefleisch mit ionisierenden Strahlen zu einer die Freisetzung von Enzymen bedingenden Schädigung der Mitochondrienmembranen führt. Gleichzeitig war zu studieren, ob Bestrahlung auch eine Inaktivierung der GOT und ihrer Isozyme bedingt. In diese Untersuchungen wurde auch die Alanin-Aminotransferase (Glutamat-Pyruvat-Transaminase; GPT; E.C.2.6.1.2) einbezogen, um festzustellen, ob die Aktivitätsänderungen der GPT mit denjenigen der GOT übereinstimmen.

Zur Ermittlung der gesamten GOT- und GPT-Aktivität wurde das Gewebe in 0,1 M Phosphatpuffer intensiv homogenisiert und im Überstand die Enzymaktivität gemessen. Durch Elektrophorese dieses Extraktes auf Membranfolie ließen sich die im Gewebe enthaltenen Aktivitäten der GOT-Isozyme ermitteln. Ferner wurden im Muskelpreßsaft (Sarkoplasma) die Gesamtkonzentrationen von GOT und GPT sowie durch Elektrophorese die Aktivitäten beider GOT-Isozyme gemessen. Die GOT_M -Aktivität im Muskelpreßsaft ist normalerweise nur sehr niedrig; ihr Ansteigen weist auf eine Freisetzung von GOT_M aus den Mitochondrien durch Schädigung der Membranen hin.

Um Aufschluß über das Ausmaß der strahlungsbedingten Veränderungen des Muskelweißes zu erhalten, wurden in den gleichen Proben die Sulfhydrylgruppen des Gewebes bestimmt und sowohl Gewebe als auch Muskelpreßsaft der SDS-Elektrophorese unterworfen.

Durchführung der Versuche

Untersuchungsmaterial und Bestrahlung

Aus dem Longissimus-dorsi-Muskel des Schweines wurden ein Tag (Tiere II und III) bzw. drei Tage nach dem Schlachten (Tier I) (Abhängen bei

+ 3°C) sechs etwa 2,5 cm dicke Scheiben (ca. 150 g) paarweise entnommen, wobei jedes Paar quer zur Längsrichtung des Muskels herausgeschnitten wurde. Eine Probe jedes Paares diente als Kontrolle (unbestrahlt), die andere Probe wurde bestrahlt. Die Proben wurden sogleich nach Entnahme aus dem Tierkörper in Hostaphan-Polyäthylenbeuteln (12/50) vakuumverpackt. Die Bestrahlung mit Elektronen-Strahlen wurde mit einem Elektronen-Linearbeschleuniger bei einer Energie von 10 MeV und einer Temperatur von 4°C durchgeführt. Die Bestrahlungsdosen betragen 0,2, 1,0 und 5,0 Mrad.

Probenahme und Bestrahlung erfolgten in Karlsruhe. Die gekühlten, aber nicht gefrorenen Schweinefleischproben wurden in Styropor-Verpackung innerhalb eines Tages nach Kulmbach versandt und dort sofort analysiert. Vor Herstellung des Preßsaftes und Homogenisieren des Gewebes wurden die Menge an ausgetretenem Saft („Tropfsaft“) ermittelt, die Muskelproben (ohne Saft) gewogen und der pH-Wert des Fleisches gemessen. Zur Extraktion des Gewebes durch Homogenisieren mit Phosphatpuffer und zur Herstellung des Muskelpreßsaftes wurden eingewogene Mengen des Fleisches verwendet; diesen Fleischmengen entsprechende Anteile des jeweiligen Tropfsaftes wurden dem Extrakt sowie dem Preßsaft zugemischt.

Extraktion der gesamten GOT- und GPT-Aktivität aus dem Muskelgewebe und Bestimmung der GOT-Isozyme**)

Die Extraktion der gesamten GOT-Aktivität und der GPT-Aktivität aus dem Gewebe durch Homogenisieren mit 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,6) im Bühler-Homogenisator (E. Bühler, Tübingen), die Bestimmung der Gesamtaktivitäten von GOT und GPT, die Herstellung des Muskelpreßsaftes aus dem unzerkleinerten Gewebe, die Elektrophorese von Extrakt und Preßsaft auf Celluloseacetat-Membranfolie sowie die Bestimmung der GOT-

Isozyme (GOT_M und GOT_S) durch Extraktion der aus der Membranfolie herausgeschnittenen, die Isozyme enthaltenden Segmente mit Phosphatpuffer und die Bestimmung der GOT-Aktivität in diesen Extrakten sind bereits an anderer Stelle (3) (10) (19) (31) beschrieben worden.

Die GOT- und GPT-Aktivitäten der Extrakte sind in Bücher-Einheiten pro Gramm Frischgewebe (BE/g), die Aktivitäten im Preßsaft in Bücher-Einheiten pro ml (BE/ml) angegeben. Die „spezifische“ GOT-Aktivität ist die GOT-Aktivität in Bücher-Einheiten, bezogen auf 1 mg Protein (in Extrakt oder Preßsaft).

Bestimmung von Sulfhydrylgruppen

In gewogenen Proben des Fleisches, die mit dem entsprechenden Anteil des aus der betreffenden Probe ausgetretenen Tropfsaftes vermischt waren, wurde der Gehalt an Sulfhydrylgruppen mittels der indirekten amperometrischen Methode nach HAMM und HOFMANN (17) (26) bestimmt. Dieses Verfahren erfaßt die Gesamtzahl der SH-Gruppen einschließlich der schwerer zugänglichen Gruppen; es ist für SH-Gruppen spezifisch (25).

SDS-Elektrophorese der Muskelproteine

Proben des zerkleinerten Muskelgewebes sowie des Preßsaftes wurden nach der Methode von HOFMANN und PENNY (27) in einer Mischung von Borsäure-Tris-Puffer (pH 8,2), Natrium-Dodecylsulfat und Dithiothreitol-Lösung „aufgeschlossen“ und der Elektrophorese auf Polyacrylamid-Flachgel unterworfen.

Proteinbestimmung

Zur Ermittlung des Proteingehaltes von Gewebe und Preßsaft wurde der Stickstoffgehalt des in Trichloressigsäure unlöslichen, gewaschenen Rückstandes nach Kjeldahl bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

1. Veränderungen der Aminotransferasen

1. Aminotransferase-Aktivitäten im Phosphatpuffer-Extrakt (Gesamtaktivität) und Muskelpreßsaft.

Bei Bestrahlen des Fleisches mit 0,2 Mrad kam es sowohl bei GOT als auch bei GPT im Phosphatpufferextrakt des Gewebes bei Tier I zu einer gewissen Abnahme, bei den Tieren II und III hingegen zu einer Zunahme der Aktivitäten (Tabelle 1, Abb. 4). Auch die auf Protein bezogenen Aktivitäten („spezifische Aktivität“) stiegen im Durchschnitt bei 0,2 Mrad

an (Abb. 1). Die Aktivitätszunahme der GOT im Extrakt betraf beide Isozyme GOT_M und GOT_S (Tabelle 1, Abb. 2). Bestrahlen mit 1 Mrad bewirkte beim Fleisch von Tier I und III eine Abnahme, beim Fleisch von Tier II eine Zunahme der GOT-Aktivität im Extrakt, während die GPT-Aktivität in allen drei Fällen abnahm (Tabelle 1). Bestrahlen mit 5 Mrad führte in allen drei Versuchen zu einer starken Abnahme der GOT- und GPT-Aktivität (Tabelle 1, Abb. 4). Die spezifische GOT-Aktivität nahm bei Dosen über 0,2 Mrad mit steigender Bestrahlungsdosis ab (Abb. 2). GOT_M scheint gegen Bestrahlung empfindlicher zu sein als GOT_S, dessen durchschnittliche Aktivität auch bei 1 Mrad noch etwas zunahm und erst bei 5 Mrad eine kräftige Erniedrigung erfuhr (Abb. 2).

Tabelle 1: Einfluß der Behandlung von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen auf die Aktivität der Aminotransferasen im Phosphatpuffer-Extrakt und Muskelpreßsaft

Probe	Bestrahlungsdosis Mrd.	Phosphatpuffer-Extrakt			GPT BE/g	Muskelpreßsaft			
		Gesamt-GOT BE/g	spez. Aktivität	GOT _M % der Gesamt-GOT		Gesamt-GOT BE/ml	Spez. GOT % der Gesamt-GOT	GPT BE/ml	
Tier Nr. I									
1	0	2239	27,8	44,2	79	1303	20,7	2,9	49
2	0,2	1728	22,9	47,4	64	1242	20,4	3,8	42
3	0	2196	33,5	43,0	72	1824	34,0	5,9	55
4	1,0	1706	22,8	43,7	66	1303	25,3	13,4	37
5	0	2148	34,2	41,6	77	2044	45,1	5,0	64
6	5,0	771	14,2	40,9	30	762	24,2	22,8	25
Tier Nr. II									
7	0	1104	15,9	60,0	78	872	10,5	2,6	65
8	0,2	1946	28,3	49,1	148	1693	19,1	4,7	79
9	0	1813	26,2	60,8	129	1032	11,7	4,1	69
10	1,0	1672	25,2	46,0	123	1593	19,2	3,2	62
11	0	1813	25,6	56,8	133	1202	14,4	5,0	63
12	5,0	1308	23,2	40,3	58	1182	17,7	9,8	24
Tier Nr. III									
13	0	1613	18,7	54,4	79	1583	15,9	5,5	61
14	0,2	2126	25,2	47,7	121	1683	17,5	5,4	62
15	0	1343	14,4	51,5	76	1082	10,1	5,3	44
16	1,0	2021	22,1	41,8	130	1192	13,2	5,5	48
17	0	1675	17,1	49,9	104	1423	13,7	5,3	70
18	5,0	1014	14,2	42,3	40	842	10,8	13,7	18

In mancher Hinsicht waren die Befunde im Muskelpreßsaft ähnlich denjenigen im Extrakt. So kam es auch hier bei 0,2 Mrad bei den Versuchen II und III zu einem Anstieg der GOT- und GPT-Aktivität und mit weiter zunehmender Bestrahlungsdosis zu fortschreitender Inaktivierung beider Enzyme (Tabelle 1, Abb. 4). 0,2 Mrad bewirkten eine kräftige Aktivierung der durchschnittlichen GOT_S-Aktivität. 1 Mrad blieb ohne Effekt, während 5 Mrad eine starke Abnahme der GOT_S-Aktivität zur Folge hatte (Abb. 3). Wie im Gewebeextrakt, so wurde auch im Preßsaft GOT_S durch 0,2 Mrad stärker aktiviert als GOT_M (Abb. 3). Der auffallende Befund,

daß die GOT_M-Aktivität im Preßsaft bei hoher Bestrahlungsdosis nicht abnahm, soll weiter unten diskutiert werden.

Bei der Diskussion dieser und der folgenden Ergebnisse werden die hier beobachteten Wirkungen der Elektronen-Bestrahlung verglichen mit den Resultaten von Untersuchungen, bei welchen auch γ -Strahlen verwendet wurden.

Solche Vergleiche sind insofern berechtigt, als es bisher keine eindeutigen Beweise dafür gibt, daß die Bestrahlung mit Elektronen (β -Strahlen) andere Wirkungen hervorruft als die mit γ -Strahlen. Da die Schichtdicke der Fleischproben nicht sehr groß war, wurden sie mit Elektronen ganz durchstrahlt. Der Dosis-Begriff kann in gleiche Weise für β - und γ -Strahlen wie überhaupt für alle energiereichen Strahlen angewendet werden (44). Der einzige Unterschied zwischen dem hier verwendeten Be-

*) Die Bestrahlungskonservierung von Fleisch und Fleischerzeugnissen ist in der Bundesrepublik Deutschland nicht zugelassen.

**) Frau LUISE TEITZLAFF danken wir für die sorgfältige Durchführung dieser Versuche.

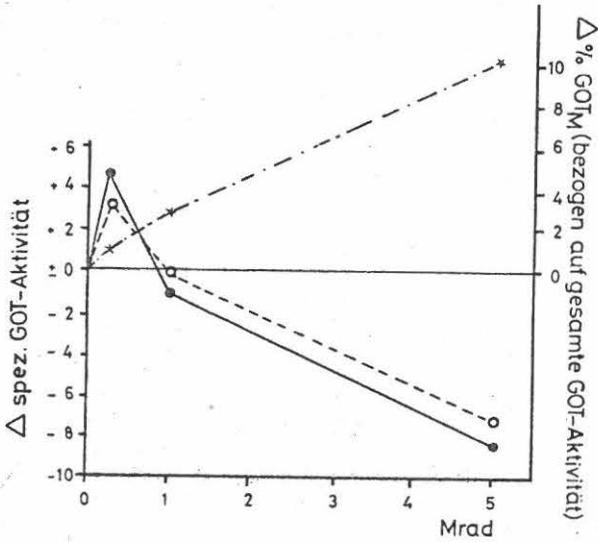


Abb. 1: Veränderung der spezifischen GOT-Aktivität im Phosphatpuffer-Extrakt und Muskelpreßsaft sowie der prozentualen GOT-Aktivität im Preßsaft durch Behandeln von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen (Mittelwerte der Versuche I—III)
 ●—●: GOT_{spez} im Extrakt; ○—○: GOT_{spez} im Preßsaft; *—*—*: % GOT_M im Preßsaft (bezogen auf Gesamt-GOT).

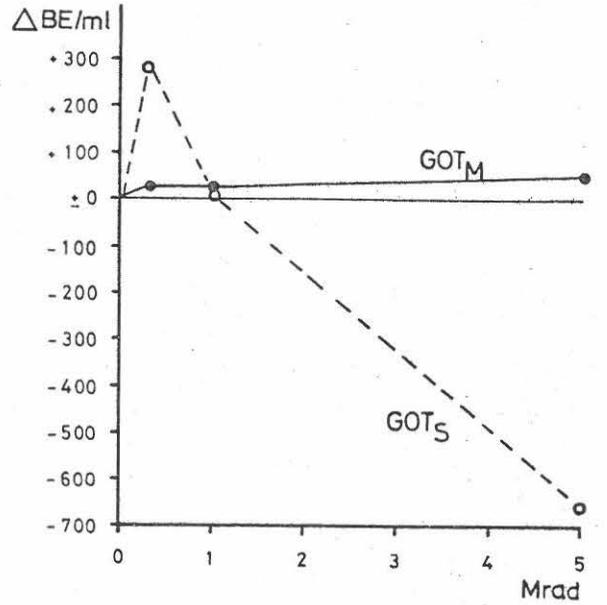


Abb. 3: Veränderungen der Aktivitäten von GOT_M und GOT_S im Muskelpreßsaft durch Behandeln von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen (Mittelwerte der Versuche I—III)

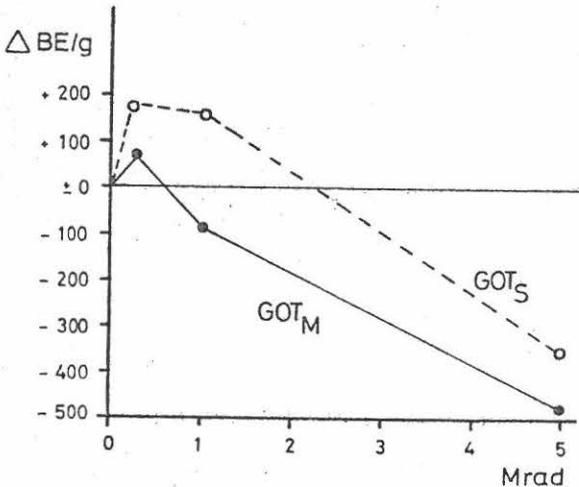


Abb. 2: Veränderung der Aktivität der Isozyme GOT_M und GOT_S im Phosphatpuffer-Extrakt durch Behandeln von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen (Mittelwerte der Versuche I—III)

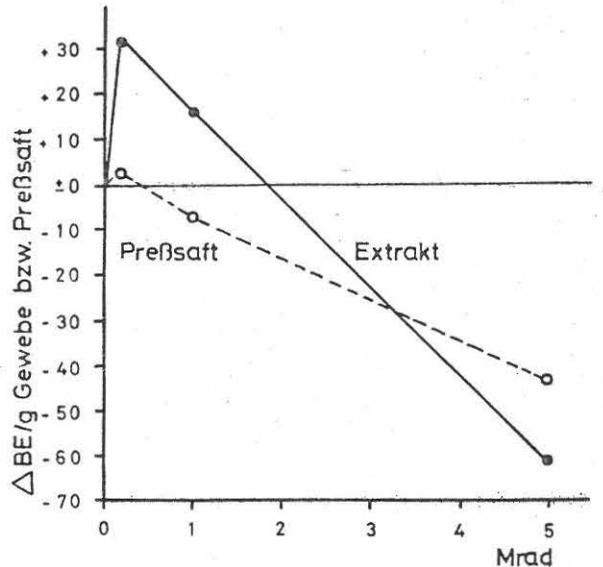


Abb. 4: Veränderung der GPT-Aktivität im Phosphatpuffer-Extrakt und Muskelpreßsaft durch Behandeln von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen (Mittelwerte der Versuche I—III)

strahlungsverfahren und denjenigen anderer Autoren mag in der „Dosisleistung“ (applizierte Dosis pro Zeiteinheit, z. B. rad/min) liegen. Einen Einfluß der Dosisleistung bei gleicher Dosis findet man aber nur bei noch lebenden Organismen.

Die Inaktivierung von Enzymen durch ionisierende Strahlen ist in vielen Fällen bei der Bestrahlung von Tierkörpern, Geweben und Enzymlösungen festgestellt worden (44). Auch bei der Bestrahlung von Muskelgewebe wurden solche Beobachtungen gemacht, wie z. B. im Falle der Adenosintriphosphatase (6) (40) und der Lactatdehydrogenase (46). Einige Muskelenzyme wie α -Amylase, Amylo-1,6-glucosidase und Maltase scheinen jedoch recht stabil zu sein und selbst durch 5 Mrad in ihrer Aktivität nicht beeinträchtigt zu werden (41). Für die Inaktivierung der meisten Enzyme des Fleisches sollen hohe Dosen über 5 Mrad erforderlich sein (34). Die verhältnismäßig hohe Stabilität der Muskelproteasen, für deren völlige Inaktivierung mehr als 70 Mrad erforderlich sind, bringen für die Lagerung von strahlenkonserviertem Fleisch erhebliche Probleme mit sich (30) (34) (39).

Im Durchschnitt betrug die Restaktivität im Muskelextrakt nach Bestrahlen des Fleisches mit 5 Mrad für GOT 56 Prozent, für GPT 41 Prozent der ursprünglichen Aktivität. Bei Versuch I war diese Aktivitätsabnahme wesentlich stärker (36 Prozent GOT-Restaktivität) als bei den Versuchen II und III (72 Prozent bzw. 61 Prozent). Es sei darauf hingewiesen, daß GOT ein

gegenüber Erhitzen sehr widerstandsfähiges Enzym ist; nach 30 min Erhitzen von Fleisch auf 70° C blieben noch 80 Prozent der Aktivität erhalten (10). GPT ist weniger hitzestabil (10). Dem entspricht auch die größere Empfindlichkeit gegen Bestrahlung.

Für die Inaktivierung der Enzyme in wäßrigen Systemen sollen in erster Linie OH-Radikale verantwortlich sein, wobei es zu einer Zerstörung aktiver Zentren und/oder einer gewissen Denaturierung kommen dürfte; hierbei soll die Inaktivierung namentlich durch die Zersetzung von SH-Gruppen hervorgerufen werden (42). Ein solcher Mechanismus könnte auch für die Bestrahlungs-Inaktivierung der Aminotransferasen in Betracht kommen, denn sowohl GOT (4) als auch GPT (45) enthalten SH-Gruppen, von denen einige für die Enzymaktivität erforderlich sind. Wie unten noch gezeigt werden soll, führte allerdings in der vorliegenden Untersuchung eine Bestrahlung auch mit 5 Mrad zu keiner merklichen Abnahme der SH-Gruppen im Gewebe. Bei dem Isozym GOT_M soll keine der in dem Enzymprotein enthaltenen SH-Gruppen für die Enzymaktivität verantwortlich sein (4); gleichwohl war bei diesem Isozym durch Bestrahlen mit 5 Mrad eine starke Aktivitätsabnahme zu beobachten (Abb. 2). Somit erscheint es zweifelhaft, daß die Inaktivierung der Aminotransfera-

sen durch ionisierende Strahlen auf einer Zerstörung von SH-Gruppen beruht.

Bei der niedrigsten angewendeten Bestrahlungsdosis von 0,2 Mrad kam es bei den Versuchen II und III zu einer Erhöhung der GOT- und GPT-Aktivität, die weit außerhalb der Schwankungsbreite der Methode (10) lag (Tab. 1). Es ist unwahrscheinlich, daß es sich bei diesem Effekt um die Folge einer Freisetzung strukturgebundener GOT handelt, da Homogenisieren des Gewebes in Phosphatpuffer mit einem Bühler-Homogenisator eine vollständige Extraktion auch der strukturgebundenen GOT_M bewirkt (10). Gegen eine solche Erklärung sprechen auch die in den Abb. 2 und 3 wiedergegebenen Befunde, da durch Bestrahlen mit 0,2 Mrad die GOT_S-Aktivität im Durchschnitt stärker anstieg als die Aktivität der im unbehandelten Gewebe strukturgebundenen GOT_M.

Die hier beobachtete Erhöhung der Aktivität von Enzymen durch Bestrahlen mit niedrigen Dosen ist in der Literatur öfters beschrieben worden. So trat durch Bestrahlen einer Myosin-Lösung bei Dosen unter 0,1 Mrad eine Steigerung der Adenosintriphosphatase (ATPase)-Aktivität ein (40). Behandeln von Actomyosin-Lösung mit γ -Strahlen führte bei 0,2 — 0,3 Mrad zu einer Erhöhung der ATPase-Aktivität, während bei 0,7 Mrad die oben erwähnte Inaktivierung begann (6). Auch bei Ganzkörperbestrahlung wurden Aktivitätszunahmen von ATPase und alkalischer Phosphatase beobachtet (37). Die proteolytische Aktivität von Hühnermuskel nahm durch γ -Bestrahlung bei 0,2 Mrad zu (30). Der letztere Effekt dürfte allerdings auf der Freisetzung lysosomaler Enzyme beruhen (1).

2. Subcelluläre Verteilung der GOT

Die GOT_M-Aktivität im Muskelpreßsaft der unbehandelten Kontrollproben war nur gering, da im unbestrahlten Fleisch kaum GOT_M aus den Mitochondrien in das Sarkoplasma übergeht (4). Daß überhaupt eine gewisse GOT_M-Aktivität im Preßsaft der Kontrollproben gemessen wurde, dürfte darauf beruhen, daß an den Schnittflächen des Fleisches Mitochondrien zerstört oder geschädigt werden. Mit zunehmender Bestrahlungsdosis stieg der Anteil der GOT_M an der gesamten GOT-Aktivität im Preßsaft an (Abb. 1). Bei der Interpretation dieses Befundes muß allerdings berücksichtigt werden, daß gleichzeitig eine mit zunehmender Dosis

steigende Inaktivierung der beiden Isozyme eintritt (siehe oben). In Anbetracht der Tatsache jedoch, daß die absoluten Aktivitäten von GOT_S und GOT_M im Phosphatpuffer-Extrakt — d. h. die Aktivitäten der insgesamt vorhandenen Isozyme — abnahmen (Abb. 2), im Preßsaft hingegen die absolute Aktivität nur der GOT_S, nicht aber der GOT_M vermindert wurde, ist zu folgern, daß bei Bestrahlen mit 5 Mrad eine partielle Freisetzung von GOT_M aus den Mitochondrien eingetreten sein muß. Bei Versuch II z. B. hatte bei Bestrahlen mit 5 Mrad die GOT_M-Aktivität im Extrakt von 973 auf 521 BE/g abgenommen, während die GOT_M-Aktivität im Preßsaft von 58 auf 109 BE/ml angestiegen war.

Die Freisetzung der GOT_M läßt auf eine Schädigung der Mitochondrienmembranen durch ionisierende Strahlen schließen. Tatsächlich hat man nach Bestrahlen schon des öfteren eine Schwellung der Mitochondrien und eine Desintegration der Cristae mit einem Abbau der Hüllenmembran beobachtet (44). Über die Freisetzung von Enzymen („enzyme release“) aus Zellstrukturen unter dem Einfluß ionisierender Strahlen herrscht indessen in der Literatur keine einheitliche Auffassung. Da bei den Ionisationsprozessen eine lokale Anhäufung von elektrischen Ladungen auftritt, ist es durchaus verständlich, daß dieser Vorgang zu Veränderungen biologischer Strukturen und damit auch der Mitochondrienmembranen führt. Neben kurzzeitigen Effekten können strahlchemische Reaktionen wie Oxydation von SH-Gruppen oder Bildung von Lipidperoxiden die Membranen verändern. Ebenso weist die abnehmende Bindung von Lipiden an die Mitochondrienmembranen auf Strahlenschädigung dieser Art hin (44). STREFFER (44) sowie ALI und RICHARDS (1) zitieren sowohl Befunde, die eine Freisetzung von Enzymen bestätigen, als auch Resultate, die dagegen sprechen; STREFFER neigt zu der Auffassung, daß eine Freisetzung von Enzymen aus Zellmembranen durch ionisierende Strahlen kaum in Betracht kommt. Andererseits zeigte es sich bei der Bestrahlung von Hirn-Mitochondrien, daß die Aktivität der „löslichen“ GOT auf Kosten der „gebundenen“ GOT zunahm, während die gesamte GOT unverändert blieb; dies wurde mit einer Freisetzung der GOT_M erklärt (5). Jüngst konnte nachgewiesen werden, daß Bestrahlen von Leberschnitten mit γ -Strahlen (1 Mrad) aus den Lysosomen kateptische Aktivität in Freiheit setzt, wahrscheinlich infolge einer Zerstörung der Lysosomen oder auch einer Steigerung der Permeabilität lysosomaler Membranen (1).

II. Veränderungen der Proteine

1. pH-Wert des Fleisches und Tropfsaftbildung

Die Bestrahlung des Schweinefleisches hatte eine Steigerung des pH-Wertes zur Folge, die bei 5 Mrad durchschnittlich 0,3 pH-Einheiten betrug

(Tab. 2, Abb. 5). Ein ähnlicher Effekt — pH-Erhöhung um etwa 0,2 Einheiten bei 5 Mrad — war früher bei der Bestrahlung von Rindfleisch beobachtet worden (7) (33).

Tabelle 2: Einfluß der Behandlung von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen auf pH-Wert des Gewebes, Tropfsaftmenge, Proteinlöslichkeit und Sulfhydrylgruppen im Gewebe

Probe Nr.	Bestrahlungsdosis Mrd.	pH-Wert des Gewebes	Tropfsaft g/100 g Gewebe	Protein im		Sulfhydrylgruppen	
				Phosphatpufferextrakt mg/g Gewebe	Protein im Preßsaft mg/ml	mg SH pro 100 g Gewebe	Mole SH pro 10 ⁵ g Protein
Tier Nr. I							
1	0	5,51	5,62	80,65	62,86	—	—
2	0,2	5,49	6,03	75,22	60,91	—	—
3	0	5,60	6,61	65,55	53,57	—	—
4	1,0	5,61	5,35	74,91	51,41	—	—
5	0	5,61	7,34	62,76	45,36	—	—
6	5,0	5,71	11,09	54,21	31,54	—	—
Tier Nr. II							
7	0	5,67	1,57	69,47	82,66	79,4	12,2
8	0,2	5,65	5,13	68,66	88,45	74,2	11,4
9	0	5,59	4,26	69,18	87,95	75,4	11,9
10	1,0	5,62	4,50	66,47	83,03	83,3	12,4
11	0	5,58	2,55	70,83	83,66	76,7	11,5
12	5,0	5,78	5,48	56,38	66,78	80,3	12,0
Tier Nr. III							
13	0	5,70	5,26	86,47	99,04	84,5	12,0
14	0,2	5,50	8,22	84,32	96,01	87,2	12,2
15	0	5,70	4,00	93,20	106,85	88,5	13,2
16	1,0	5,79	7,90	91,40	90,22	83,2	11,8
17	0	5,61	5,98	97,88	103,57	88,5	12,8
18	5,0	6,03	14,54	71,59	77,87	88,5	12,2

Parallel mit dem pH-Wert änderte sich auch die Menge des in den Packungen der Proben ausgetretenen Saftes („Tropfsaft“) (Tab. 2, Abb. 5). Auch diese Zunahme des Tropfsaftes durch Behandeln von Fleisch mit ionisierenden Strahlen ist schon häufig beschrieben worden; sie beruht auf einer Abnahme des Wasserbindungsvermögens des Gewebes durch strahlenreduzierte Veränderungen der myofibrillären Proteine, bei welchen es sich wahrscheinlich um intermolekulare Vernetzungen handelt (13).

2. Löslichkeit der Proteine

Aus Tabelle 2 und Abb. 6 sind die Änderungen der Proteinkonzentration im Phosphatpuffer-Extrakt und im Muskelpreßsaft in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis zu ersehen. Bis zu einer Dosis von 1 Mrad war im Extrakt kein eindeutiger Effekt der Bestrahlung zu erkennen. Bestrahlen bei 5 Mrad hatte eine starke Abnahme des löslichen Eiweißes zur Folge. Im Preßsaft des Fleisches kam es bereits bei 1 Mrad zu einer kräftigen Abnahme des Proteingehaltes. In Anbetracht der verhältnismäßig niedri-

gen Ionenstärke des zur Extraktion verwendeten Phosphatpuffers (etwa 0,3) und der Unlöslichkeit myofibrillären Eiweißes im Muskelpreßsaft (Sarkoplasma) dürfte es sich hier vorwiegend um Löslichkeitsveränderungen der Sarkoplasmproteine handeln.

Die Abnahme der Löslichkeit der Sarkoplasmproteine, die schon des öfteren bei der Bestrahlung von Fleisch registriert worden war (7) (33) (46), ist sicherlich einer gewissen Denaturierung dieser Proteine zuzuschreiben. Auf die Frage der Eiweißdenaturierung durch Bestrahlen soll weiter unten noch eingegangen werden. Daß Behandeln von Schweine- und Rindfleisch mit ionisierenden Strahlen bei Dosen unter 2 Mrad nicht unmittelbar eine Verminderung des Sarkoplasma-Eiweißes bewirkt, war auch von IORDANOW (28) (29) berichtet worden.

3. Sulfhydrylgruppen des Gewebes

Bei den Versuchen II und III wurden die Sulfhydrylgruppen des Gewebes

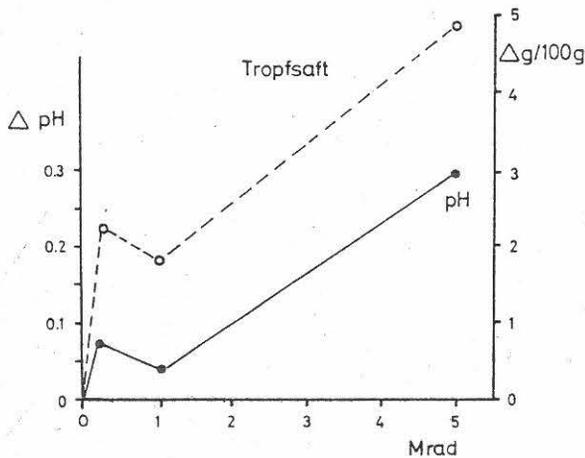


Abb. 5: Veränderung des pH-Wertes des Fleisches und der ausgetretenen Saftmenge („Tropfsaft“) durch Behandeln von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen (Mittelwerte der Versuche I—III).

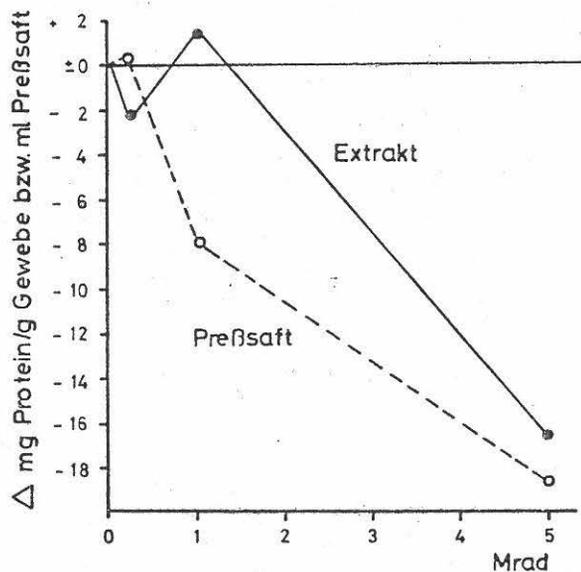


Abb. 6: Veränderungen des Proteingehaltes im Phosphatpuffer-Extrakt und Muskelpreßsaft durch Behandeln von Schweinemuskel mit Elektronen-Strahlen (Mittelwerte der Versuche I—III).

bestimmt (Tab. 2). Selbst Bestrahlen mit 5 Mrad blieb ohne merklichen Einfluß auf den Gehalt des Schweinefleisches an SH-Gruppen. Dies war insofern überraschend, als bisherige Angaben in der Literatur eine Abnahme dieser Gruppe durch ionisierende Strahlen erwarten ließen. GRUNEWALD (11) fand bei Bestrahlung (5 Mrad) von frischem Rindfleisch und gefriergetrocknetem Schweinefleisch mit Elektronenstrahlen eine starke Abnahme von mit Methylquecksilberjodid reagierenden SH-Gruppen und in einigen Fällen eine entsprechende Zunahme von Disulfidgruppen. Der Cysteingehalt des Fleisches wurde durch Bestrahlen also nur insofern verändert, als Cystein zu Cystin oxydiert wurde. Diese Resultate sind allerdings nur bedingt mit den vorliegenden Ergebnissen vergleichbar, da die Versuchsbedingungen sich in mehrfacher Hinsicht unterschieden: Bei den Versuchen von GRUNEWALD wurde frisches Rindfleisch, nicht frisches Schweinefleisch verwendet; die bestrahlten Fleischproben waren zwei Wochen, nicht nur 2—3 Tage gelagert worden; als SH-Reagens wurden CH_3HgJ , nicht Ag^+ verwendet; die Dauer der Reaktion des SH-Reagens mit dem Gewebe war kürzer als 60 min; die Bestimmung der SH-Gruppen wurde im gefriergetrockneten, nicht im frischen Gewebe vorgenommen.

PALMIN und BREGER (38) berichten von einer Abnahme des Glutathions bei Bestrahlen von Rindfleisch mit γ -Strahlen. Da an dem unangenehmen Geruch, den Fleisch bei Bestrahlen mit Dosen von 5 Mrad und darüber neben Methylmercaptan, das wahrscheinlich dem Methionin entstammt, auch Schwefelwasserstoff beteiligt ist (2)(33)(34)(47), liegt es nahe, eine Zerstörung von Cystein unter Abspaltung von H_2S anzunehmen. Bei

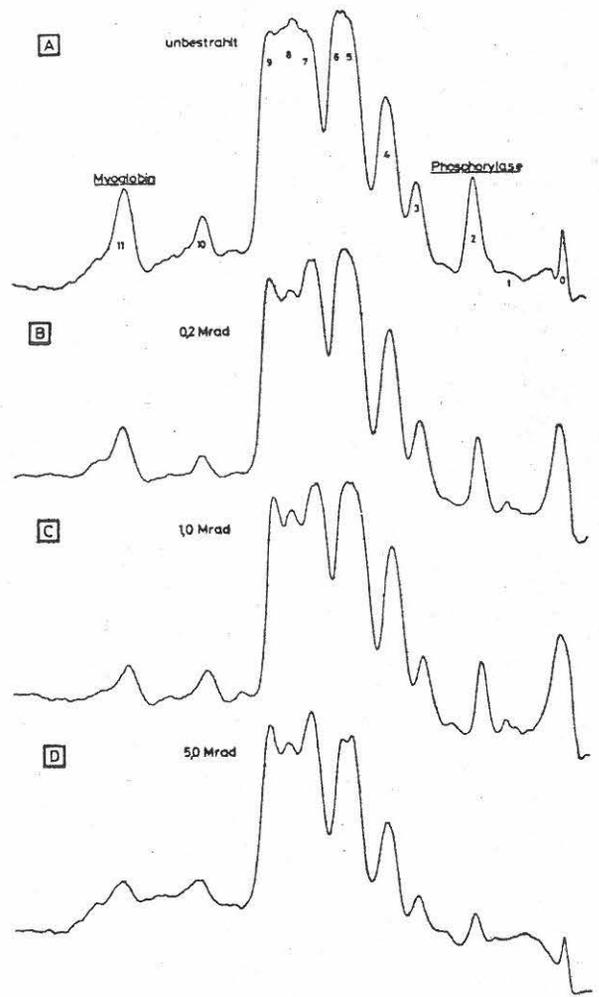


Abb. 7: Densitogramme der SDS-Elektrophorese von Muskelpreßsaft von Schweinemuskel, der mit Elektronen-Strahlen unterschiedlicher Dosis behandelt worden war (Versuch III). Peak 0 = Auftragsstelle

Bestrahlung einer bestimmten, aus Rindfleisch isolierten wasserlöslichen, nicht dialysierbaren Fraktion kam es zu einem völligen Verschwinden des Cysteins (21)(22). In Lösung sollen Cystein und Cystin zu den strahlenempfindlichsten Aminosäuren gehören. Im Gewebe können jedoch ganz andere Verhältnisse gegeben sein. So war bei Bestrahlen von Schweine-, Rind- und Putenfleisch mit einer Dosis von 3 Mrad keine signifikante Abnahme von Cystein eingetreten (36). FUJIMAKI et al. (9) konnten bei Bestrahlen von Rindfleisch (4 Mrad) keine Veränderung des SH-Gehaltes von Actin feststellen. Bei Bestrahlen von Eialbumin, Casein und Magermilch hatte man sogar eine Zunahme von freien SH-Gruppen beobachtet (32)(35). Freilich ist zu bedenken, daß solche Resultate ganz von der Zugänglichkeit der SH-Gruppen des Eiweißes für das jeweils verwendete Reagens und von den Reaktionsbedingungen abhängen.

Da die in der vorliegenden Arbeit verwendete und an zahlreichen Proteinen mit bekannter Zahl an leicht und schwer zugänglichen SH-Gruppen geprüfte Methode sämtliche im Gewebe enthaltenen SH-Gruppen erfaßt, dürften die damit erhaltenen Ergebnisse zuverlässiger sein als diejenigen, die von einigen anderen Autoren berichtet wurden. Es wäre zweifellos von Interesse, den Einfluß der Bestrahlung auf die SH- und SS-Gruppen des Fleischeiweißes mit Hilfe dieser Methode an einem umfangreicheren Material zu studieren. Die Änderung der Zugänglichkeit von SH-Gruppen durch Bestrahlung läßt sich mit der hier verwendeten Methode nicht verfolgen, da mit dieser die SH-Gruppen in ihrer Gesamtheit bestimmt werden. Diese Frage ließe sich jedoch unter Einsatz von Reagentien, die nur mit leichter zugänglichen SH-Gruppen reagieren, mit Hilfe des Verfahrens der amperometrischen Titration (23)(26) studieren.

4. SDS-Elektrophoreseder Muskelproteine

Sowohl mit dem Muskelgewebe als auch mit Proben des Preßsaftes (Sarkoplasma) wurde die SDS-Elektrophorese durchgeführt. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie eine recht befriedigende Trennung der Proteine

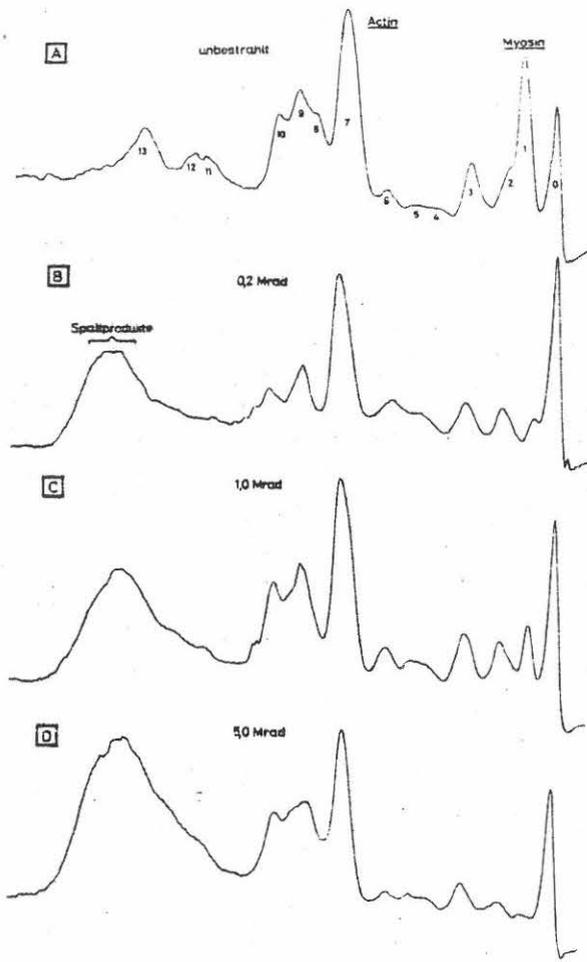


Abb. 8: Densitogramme der SDS-Elektrophorese von Schweinemuskel-Gewebe, das mit Elektronen-Strahlen unterschiedlicher Dosis behandelt worden war (Versuch III). Peak 0 = Auftragsstelle

des Sarkoplasmas und der Myofibrillen aufgrund ihres Molekulargewichtes ermöglicht; sie hat den Nachteil, daß sie Denaturierungsvorgänge im Protein — z. B. Entfaltung oder Aggregation von Proteinen — nicht erkennen läßt, da Natriumdodecylsulfat (SDS) selber ein kräftig denaturierendes Agens ist. Beispiele für den Effekt der Bestrahlung von Schweinefleisch mit Elektronen-Strahlen auf die Elektrophorese-Densitogramme sind in Abb. 7 (Muskelpreßsaft = Sarkoplasma) und Abb. 8 (Gesamtgewebe) wiedergegeben.

Bei den Elektropherogrammen des Sarkoplasmas (Abb. 7) fällt die kräftige Abnahme der Phosphorylase-Fraktion (von 3,4 auf 0,8 cm² Peakfläche) und des Myoglobins (von 4,5 auf 1,2 cm²) durch Bestrahlung auf. Abnahme erlitten auch die übrigen Proteinbanden. Bei der mit 5 Mrad bestrahlten Probe ist eine merkliche Zunahme des „Untergrundes“ im niedermolekularen Bereich (Peak 10 und 11) festzustellen, wahrscheinlich infolge der Bildung von Spaltprodukten. Der letztere Effekt war auch schon von anderer Seite bei der Bestrahlung von Fleisch mit 5 Mrad festgestellt worden (8). Die Summe der Peakflächen nahm mit steigender Bestrahlungsdosis ab (von 58,7 auf 49,0 cm²). Dies hängt sicherlich mit der Abnahme der Löslichkeit der Sarkoplasma-Proteine (Abb. 6) zusammen. Die beobachtete Abnahme der Phosphorylase-Bande ist übrigens für eine Methode zum Nachweis der Konservierung von Fleisch mit ionisierenden Strahlen kaum zu verwenden, da z. B. das wäßrige, blasse Fleisch streifenempfindlicher Schweine (PSE-Fleisch) eine gegenüber normalem Fleisch verminderte Phosphorylase-Bande im SDS-Elektropherogramm aufweist (20).

Bemerkenswert ist der Einfluß der Bestrahlung auf die Elektropherogramme des Gesamtgewebes, also der Summe von Sarkoplasmaproteinen und myofibrillärem Eiweiß (Abb. 8). Selbst bei der niedrigsten Dosis von 0,2 Mrad kam es zu einer drastischen Abnahme der Myosin-Bande, die bei 5 Mrad noch etwas stärker war (Gesamtabnahme der Peakfläche von 5,1

auf 0,2 cm²). Die Actin-Bande blieb jedoch selbst bei 5 Mrad nahezu unverändert. Die Intensität der Bande des hochmolekularen Proteins Nr. 2 hatte abgenommen (von 1,4 auf 0,7 cm²), während die breite Bande von Proteinen oder Polypeptiden mit niedrigerem Molekulargewicht (Peak 13) stark angestiegen war (von 5,3 auf 24,2 cm²). Hier handelt es sich sehr wahrscheinlich um Spaltstücke, die durch die Desintegration des Myosins entstanden sind. Eine Zunahme war auch im Bereich der Banden 11 und 12 zu verzeichnen. Da die Summe der Peakflächen durch Bestrahlen von 39,1 auf 55,9 cm² zugenommen hatte, mußte sich die Anfahrbarkeit der Proteine durch die Bestrahlung des Fleisches erhöht haben. Möglicherweise sind die durch Strahlenbehandlung entstandenen Spaltprodukte des Myosins stärker anfärbar als die Proteine des unbehandelten Fleisches.

Aus dem in Abb. 8 gezeigten Elektropherogramm ist zu folgern, daß Myosin durch Bestrahlen in Spaltstücke von niedrigerem Molekulargewicht desintegriert wird, während Actin verhältnismäßig resistent ist. Dieses Ergebnis steht in gewisser Übereinstimmung mit Befunden von FUJIMAKI et al. (9), die aus Messungen der SH-Gruppen des Actins sowie der Viskosität und der ATP-Empfindlichkeit des Actomyosins schlossen, daß bei der Bestrahlung von Fleisch Actin wesentlich stabiler ist als Actomyosin, was eine Depolymerisation erleidet. Mit einer Desintegration des Myosins ist auch ein Befund von SHUKOMLNOV et al. (43) zu erklären, wonach aus γ -bestrahltem Rindfleisch (6 Mrad) isoliertes Myosin bei der Trypsinhydrolyse in kleinere Bruchstücke zerfällt als Myosin aus nicht bestrahltem Fleisch. Andererseits wird von einer Aggregation des Myosins bei Bestrahlung des gelösten Proteins berichtet (40). Nun könnte sich aber Myosin in Lösung anders verhalten als in situ im Gewebe — wie dies z. B. auch bei der Gefrierdrying der Fall ist — und zudem würden lockere Aggregationen unter dem Einfluß von SDS wieder aufgehoben.

5. Vergleich der Strahlenwirkung mit der Hitzedenaturierung

pH-Erhöhung, Abnahme der Proteinlöslichkeit und Austritt von Saft aus dem Gewebe sind Erscheinungen, die nicht nur beim Bestrahlen, sondern auch beim Erhitzen von Fleisch auftreten (12). Die Frage ist daher berechtigt, ob Behandlung mit ionisierenden Strahlen die gleichen Veränderungen im Muskelgewebe hervorruft wie Erhitzen. Studien über die pH-Abhängigkeit des Wasserbindungsvermögens von unbehandeltem und von bestrahltem (5 Mrad) Fleisch ergaben, daß der Bestrahlungseffekt der Wirkung milden Erhitzens ähnelt (13). Dies steht im Einklang mit der Tatsache, daß die Abnahme der Löslichkeit der Sarkoplasmaproteine um etwa 20 Prozent bei Bestrahlen mit 5 Mrad (Tab. 2) mit der Wirkung des Erwärmens des Fleisches auf etwa 50° C vergleichbar ist (12)(14). Andererseits entspricht eine Erhöhung des Fleisch-pH-Wertes um 0,3 Einheiten, wie sie bei der Bestrahlung mit 0,5 Mrad beobachtet wurde, einer Erhöhung des Fleisches auf etwa 70° C (14). Ähnlich wie bei der Bestrahlung mit 5 Mrad tritt auch bei Erhitzung bis auf mindestens 70° C keine Abnahme der insgesamt vorhandenen SH-Gruppen ein (16). Die oben erwähnte, durch SDS-Elektrophorese nachgewiesene Desintegration des Myosins, wie sie bereits bei einer Bestrahlung mit 0,2 Mrad erfolgt, war jedoch bei Erhitzen des Fleisches bis mindestens 100° C (30 min) nicht festzustellen (24). Bei höheren Erhitzungstemperaturen nahm die Intensität der angefärbten Proteinbanden im SDS-Elektropherogramm ab und zwar beim Myosin stärker als beim Actin. Gleichzeitig kam es zu einer verstärkten Anfärbung des Untergrundes, nicht jedoch zu der eindeutigen Zunahme einer bestimmten Fraktion niedriger molekularer Spaltprodukte, wie dies bei der Bestrahlung festzustellen war. Somit besteht offenbar ein grundsätzlicher Unterschied zwischen der Wirkung der Bestrahlung und derjenigen des Erhitzens.

Möglicherweise ist die Abnahme der Myosin-Bande und die Zunahme niedriger molekularer Spaltstücke bei gleichzeitiger Erhaltung der Actin-Bande, wie sie im Elektropherogramm von Abb. 8 dargestellt sind, als Grundlage für einen Nachweis der Strahlenkonservierung von rohem und von blanchiertem Fleisch geeignet. Zur Prüfung dieser Frage werden gegenwärtig noch Untersuchungen an einer größeren Zahl von Fleischproben verschiedener Tier- und Muskelarten durchgeführt.

Literatur

- (1) ALI, M. u. J. F. RICHARDS: Effect of gamma radiation on chicken liver catalytic activity and release of lysosomal cathepsin. *J. Food Sci.* 40, 47 (1975).
- (2) BALDRATI, C. u. D. CAGNA: Action of ionizing radiation on the constituents of beef. *Industria Conserva* 48, 144 (1975).
- (3) BERGMAYER, H. U.: „Methoden der enzymatischen Analyse“, 2. Aufl. S. 685. Verlag Chemie, Weinheim 1970.
- (4) BRAUNSTEIN, A. E.: Amino group transfer. In: „The Enzymes“ (Hrsgb. P. D. BOYER), 3. Aufl., Bd. IX, S. 379. Academic Press, New York u. London 1973.
- (5) CHERMUGUZOV, V. M. u. A. T. PIKULEV: Effect of γ -ray radiation on the activity of aspartate aminotransferase of brain mitochondria. *Dokl. Akad. Nauk Beloruss. SSR* 14, No. 4, 367 (1970); *Ref. Chem. Abstr.* 73, 62829 t (1970).
- (6) COELHO, L.: Effect of gamma irradiation on actomyosin solutions. In: „Enzymological Aspects of Food Irradiation“, Panel Proceed. Series STI/PUB/216; S. 1. Internat. Atomic Energy Agency, Wien 1969.
- (7) DIEHL, J. P.: Zur Strahlenkonservierung von Lebensmitteln. *Zentralbl. Veterinärmed.*, Beiheft 11, 206 (1970).
- (8) DIEHL, J. P.: Möglichkeit der analytischen Erfassung einer Bestrahlung von Lebensmitteln. In: „Aktuelle Probleme der Lebensmitteltechnologie“ (Hrsgb. K. Heyns), Z. Ernährungswiss., Suppl. 16, 111 (1973).
- (9) FUJIMAKI, M., N. ARAKAWA u. G. OGAWA: Effect of gamma irradiation on the chemical properties of actin and actomyosin of meats. *J. Food Sci.* 26, 178 (1961).
- (10) GANTNER, G. u. R. HAMM: Transaminasen des Fleisches. Extra-

⁷ Der Peak 0 (Auftragsstelle) wurde hier nicht berücksichtigt.

hierbarkeit der Transaminasen (GOT und GPT). Z. Lebensmittelunters. u. -Forsch. 126, 1 (1964). — (11) GRUNEWALD, TH.: Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Bestrahlungsverluste von Cystin und Cystein in Lebensmitteln. Kältetechnik 21, 336 (1969). — (12) HAMM, R.: Heating of muscle systems. In: "The Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food" (Hrsgb. E. J. Briskey, R. G. Cassens u. J. G. Trautmann). S. 263. Univ. of Wisconsin Press, Madison 1966. — (13) HAMM, R.: "Kolloidchemie des Fleisches", S. 182. Parey Verlag, Berlin, Hamburg 1972. — (14) HAMM, R. u. F. E. DEATHERAGE: Changes in hydration, solubility and charges of muscle proteins during heating of meat. Food Res. 25, 587 (1960). — (15) HAMM, R. u. A. A. EL-BADAWI: Aktivität und subzelluläre Verteilung einiger Mitochondrien-Enzyme im Skelettmuskel. III. Einfluß des Gefrierens und Auftauens von Rindermuskel. Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 150, 12 (1972). — (16) HAMM, R. u. K. HOFMANN: Changes in the sulphhydryl and disulphide groups in beef muscle proteins during heating of meat. Nature 207, 1269 (1965). — (17) HAMM, R. u. K. HOFMANN: Schwefelhaltige Verbindungen des Fleisches. III. Bestimmung von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen in Myofibrillen und Muskelgewebe mit Hilfe der amperometrischen Titration. Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 130, 133 (1966). — (18) HAMM, R. u. L. KORMENDY: Transaminasen of skeletal muscle. III. Influence of freezing and thawing on the subcellular distribution of glutamic-oxalo-acetic transaminase in bovine and porcine muscle. J. Food Sci. 34, 452 (1969). — (19) HAMM, R., L. KORMENDY u. G. GANTNER: Transaminasen of skeletal muscle. I. The activity of transaminases in postmortem bovine and porcine muscle. J. Food Sci. 34, 446 (1969). — (20) HAMM, R., C. WEDEMEYER u. K. HOFMANN: Unveröffentlichte Ergebnisse. — (21) HEDIN, P. A., G. W. KURTZ u. R. B. KOCH: Production and prevention of irradiated odor in beef. Food Research 25, 382 (1960). — (22) HEDIN, P. A., G. W. KURTZ u. R. B. KOCH: The chemical composition of beef protein fractions before and after irradiation. J. Food Sci. 26, 112 (1961). — (23) HOFMANN, K.: Bestimmung von Thiolgruppen mit AgNO₃, NAM und PCMB unter Anwendung der amperometrischen Titration. Z. Analyt. Chem. 256, 187 (1971). — (24) HOFMANN, K.: Identifizierung und Bestimmung von Fleisch- und Fremdeiweiß mit Hilfe der Dodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese. Z. Anal. Chem. 267, 355 (1973). — (25) HOFMANN, K. u. R. HAMM: Bestimmung von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen in Proteinen mit Hilfe der amperometrischen Titration. I. Über die Reaktionsfähigkeit von Protein-SH-Gruppen und die SH-Spezifität von Silber-Ionen. Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 156, 100 (1974). — (26) HOFMANN, K. u. R. HAMM: Bestimmung von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen in Proteinen mit Hilfe der amperometrischen Titration. II. Kritische Betrachtung der Methoden zur amperometrischen Titration von Protein-SH-Gruppen mit Silbernitrat. Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 156, 139 (1974). — (27) HOFMANN, K. u. I. F. PENNY: Methoden der Identifizierung und quantitativen Bestimmung von Fleisch- und Fremdeiweiß mit Hilfe der SDS-Polyacrylamid-Elektrophorese auf Flachgelen. Fleischwirtschaft. 53, 252 (1973). — (28) IORDANOV, I.: Changes in meat with γ -rays. II. Compositional changes in free amino acids and soluble proteins of beef. Veterinaromeditsinski Nauk 8, Nr. 4, 23 (1971); Ref. Food Sci. Technol. Abstr. 3, 11 S 386 (1971). — (29) IORDANOV, I.: Changes in Meat with γ -rays. VI. Compositional changes in free amino acids and soluble proteins of pork. Veterinaromeditsinski Nauk 9, Nr. 2, 43 (1971); Ref. Food Sci. Technol. Abstr. 4, 7 S 869 (1972). — (30) KLEIN, W. u. H. ALTMANN: Messung der proteolytischen Aktivität von Hühnerfleisch und deren Einfluß auf die löslichen Proteine nach ionisierender Bestrahlung. Kerntechnik, Isotopentechnik u. -chemie 14, 582 (1972). — (31) KORMENDY, L., G. GANTNER u. R. HAMM: Isozyme der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase im Skelettmuskel von Schwein und Rind. Biochem. Z. 342, 31 (1965). — (32) KRAYBILL, M. J., M. S. READ, R. S. HARDING u. T. E. FRIEDEMANN: Biochemical alterations of muscle proteins by gamma and ultraviolet irradiations. Food Research 25, 372 (1960). — (33) KUPRIANOFF, J. u. K. LANG: "Strahlenkonservierung und Kontamination von Lebensmitteln". Steinkopff-Verlag, Darmstadt. 1960. — (34) LAWRIE, R. A.: "Meat Science". 2. Aufl., S. 261. Pergamon Press, Oxford etc. 1974. — (35) McARDLE, F. J. u. N. W. DESROSIER: Influence of ionizing radiation on the protein components of selected food. Food Technol. 9, 527 (1955). — (36) METLITSKII, L. V., V. N. ROGACHEV u. V. V. KRUSCHEV: Radiation processing of food products. ORNL-IC-14, Oak Ridge Nat. Lab. 1968, zit. bei 11). — (37) NOAMANN, M., K. M. HANDY u. W. O. CASTER: Effect of whole-body irradiation on enzymes in rat tissues. Bull. Georgia Acad. Sci. 20, 10 (1968) u. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 129, 782 (1968). — (38) PALMIN, V. V. u. A. K. BREGGER: Changes in glutathion and sarcoplasmic proteins during γ -radiation of meat. Izv. Vysikh Uchebn. Zavedenii Pshechavay Tekhnol. 1963, Nr. 3, 41; Ref. Chem. Abstr. 59, 12081 b (1963). — (39) RHODES, D. N.: Radiation processing and the activity of enzymes of importance in the deterioration of foods of animal origin. In: "Enzymological Aspects of Food Irradiation". Panel Proceed. Series STI/PUB/216, S. 49. Internat. Atomic Energy Agency, Wien 1969. — (40) RHODES, D. N. u. E. M. SOUTHERN: Irradiation of meat proteins. U.S. Clearinghouse Fed. Sci. Technol. Inform. 1967, AD-827999. Ref. Chem. Abstr. 70, 76544w (1969). — (41) RHODES, D. N., J. G. SHARP u. M. INGRAM: Biochemical principles in the application of ionizing radiation in meat technology. Proceed. Int. Congress of Biochem. 8, 217 (1963). — (42) SANNER, T. u. A. PHL: Fundamental aspects of enzyme inactivations by ionizing radiation. In: "Enzymological Aspects of Food Irradiation". Panel Proceed Series STI/PUB/216. Internat. Atomic Energy Agency, Wien 1969. — (43) SHUKOMLINOV, B. F., M. P. PAKOSH u. N. P. KUTSYA: Effect of ionizing radiation on the kinetics of the enzymatic hydrolysis of myosin. Fermenty. Med. Pishch. Prom. Sel. Khoz. 1968, 123; Ref. Chem. Abstr. 71, 12027 g (1969). — (44) STREFFER, C.: "Strahlen-Biochemie". Springer-Verlag, Heidelberg 1969. — (45) TRAUTSCHOLD, U. u. E. WERLE: Transaminasen. In: "Hoppe-Seyler/Tierfelder Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse". (Hrsgb. K. Lang u. E. Lehnhart), 10. Aufl., Band IV, Teil B, S. 306. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1966. — (46) UZUNOV, G., C. TSOLUVA u. N. NESTOROV: Changes in the soluble muscle proteins and isoenzymes of lactate dehydrogenase in irradiated beef meat. Int. J. Radiat. Biol. 22, 437 (1972). — (47) WICK, E. L., E. MURRAY, J. MIZUTANI u. M. KOSHIKA: Irradiation flavor and the volatile components of beef. Advanc. in Chem. Ser. 65, 12 (1967).

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. R. Hamm u. Dr. K. Hofmann, 8650 Kulmbach, Bundesanstalt für Fleischforschung, Dr.-Ing. Th. Grünewald u. Dr. W. Partmann, 7500 Karlsruhe, Bundesforschungsanstalt für Ernährung (Bundesrepublik Deutschland)

Lebensmittel- und Ernährungsprobleme in Entwicklungsländern

Lehmann, G., P. Martinod und M. Morán: (Fachb. Analytische und Biolog. Chemie, Univ. Saarbrücken u. Inst. Nacional de la Nutrición, Quito, Ecuador). Lebensmittel- und Ernährungsprobleme in Entwicklungsländern. III. Mitt.: Die Lupine (Ernährungsumschau 21, 210 [1974]).

Durch die Expansion der Weltbevölkerung ist die Versorgung der Menschen mit hochwertigem Eiweiß in Frage gestellt. In den Bemühungen, neue Proteinquellen für die menschliche Ernährung zu erschließen, wird auf viele Pflanzen Südamerikas verwiesen, die einen großen Reichtum noch ungenutzter Nahrungsquellen darstellen. Ca. 100 verschiedene Pflanzen bilden seit jeher die Grundlage der menschlichen Ernährung; davon können nur etwa 10 Prozent als Proteinträger gelten. Besonders hohen Eiweißgehalt weisen die Sojabohne und die Lupine auf. Seit altersher bereiten die Indianer Südamerikas ebenso wie die Indios in Ecuador aus dem Samen der Lupine nahrhafte Speisen. Auch in Chile versucht man, den Anbau von Lupinen auszudehnen und beabsichtigt, Lupinenverarbeitungsanlagen zu errichten. Für viele Andenstaaten ist es von besonderem Vorteil, daß Lupinen auch auf Böden und in Regionen gedeihen, wo Sojabohnen und Getreidepflanzen nicht mehr angebaut werden können. Außerdem kann die Lupine Stickstoff aus der Luft verwerten und Phosphate in Böden ausnutzen, die von anderen Pflanzen nicht aufgenommen werden können. — Lupinensamen sind reich an Phosphor, Calcium und Nikotinsäureamid. Möglicherweise ist das der Grund dafür, daß bei den Hochlandindianern Mangelkrankheiten kaum auftreten, obwohl Mais die Grundnahrung darstellt. Wird die Lupine auf fruchtbarem Boden angebaut oder gut gedüngt, erhöht sich der Proteingehalt der Samen auf 59 Prozent; deshalb wird die Lupine von den Indios auch als „pflanzliches Fleisch“ (carne vegetal) bezeichnet. Um die Lupine als Eiweißlieferant noch besser verwerten zu können, müssen verschiedene Eigenschaften durch Züchtungsauswahl gefördert und andere unterdrückt werden. Das wichtigste Ziel der Züchtung war die Beseitigung der im Samen enthaltenen Bitterstoffe, die durch Alkaloide verursacht werden. Ein weiteres Zuchtziel war die Süßlupine mit platzfester Hülse, denn meistens platzen die Hülsen zu früh auf, und die Samen gehen verloren. Die andinen Lupinenpflanzen haben die Eigenschaft, daß die Samen von einer weichen Schale umgeben sind und die Samenhüllen bei der Reife nicht aufspringen. — Die Hektarerträge an Samen liegen fast doppelt so hoch wie die der Sojabohne, außerdem ist auch der Proteingehalt der Lupinensamen größer. Nach der Weiterverarbeitung des geschälten Samens zu Mehl enthält dieses zwischen 50 bis 60 Prozent Eiweiß. Coretti, Kulmbach

Ernährungsphysiologie und Lebensmittelrecht

Drews, H.: (Bonn-Bad Godesberg). Ernährungsphysiologie und Lebensmittelrecht. (Ernährungsumschau 22, 6 [1973]).

Die Güte eines Lebensmittels wird von dessen ernährungsphysiologischer und sensorischer Qualität entschieden. Der Lebensmittelchemie kommt ein wesentlicher Anteil an der Verbesserung der Erkenntnisse über die Grundlagen unserer Ernährung zu. Neben der Weiterentwicklung analytischer Verfahren erbrachten auch die lebensmittelchemischen Routineuntersuchungen wertvolle Ergebnisse, wie beispielsweise über den Fettgehalt von im Handel befindlichen Fleischerzeugnissen. Der Lebensmittelchemiker und andere Sachkenner sollten ihre Kenntnisse in lebensmittelrechtlichen Fragen und in bezug auf die menschliche Ernährung dazu nützen, den Verbraucher über die zu seinem Schutz bestehenden lebensmittelrechtlichen Bestimmungen zu informieren und ihn darüber hinaus über die richtige Zusammensetzung einer den modernen Erfordernissen angepaßten, ausgewogenen Ernährung zu beraten. — Laufende Verbesserungen von Nachweis- und Bestimmungsverfahren ermöglichen von Jahr zu Jahr genauere Angaben über den ernährungsphysiologischen Wert von Lebensmitteln. Auch die ernährungsphysiologischen Auswirkungen von Herstellungs- und Behandlungsverfahren könnten analytisch besser erfaßt werden. Die Zunahme gesicherter Erkenntnisse bleibt nicht ohne Rückwirkungen auf das Lebensmittelrecht. Die neuen lebensmittelrechtlichen Vorschriften dienen dem Schutz vor Täuschung und Übervorteilung sowie dem Gesundheitsschutz. Im Zweifelsfalle kann der Lebensmittelchemiker entscheiden, ob ein bestimmtes Lebensmittel von der chemischen Zusammensetzung her verfälscht oder ob seine Bezeichnung irreführend ist. Neue Diätverordnungen für Säuglingsnahrung und Diabetiker-Lebensmittel werden voraussichtlich im März 1975 in Kraft treten. Im Entwurf dazu ist vorgesehen, daß in Zukunft der Gehalt an Nährstoffen sowie der Brennwert angegeben werden. Da immer größere Teile der Bevölkerung aus Gesundheitsgründen auf eine angemessene Kalorienzufuhr achten müssen, ist vorgesehen, durch entsprechende Nährwertkennzeichnung dem Verbraucher eine wichtige Hilfestellung in dieser Richtung zu geben. — Einen besonderen Platz nehmen die Zusatzstoffe ein, wobei die Gleichstellung der Aminosäuren mit den Zusatzstoffen im Lebensmittelrecht zur Diskussion steht. Über ihre Zulassung wird noch beraten. Grundsätzlich sollen sie nach Auffassung des Verfassers erlaubt werden, wenn dies unter Berücksichtigung technologischer, ernährungsphysiologischer und diätetischer Erfordernisse mit dem Schutz des Verbrauchers zu vereinbaren ist. Coretti, Kulmbach